

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN UBI JALAR
UNGU (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) TERHADAP
EKSPRESI TNF- α DAN HISTOPATOLOGI
JEJUNUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL
INFLAMMATORY BOWEL DISEASE YANG
DIINDUKSI INDOMETASIN**

SKRIPSI

Oleh :
DAVINCI OSWALD SIAHAAN
145130101111001



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN UBI JALAR
UNGU (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) TERHADAP
EKSPRESI TNF- α DAN HISTOPATOLOGI
JEJUNUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL
INFLAMMATORY BOWEL DISEASE YANG
DIINDUKSI INDOMETASIN**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :
DAVINCI OSWALD SIAHAAN
145130101111001



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN UBI JALAR UNGU
(*Ipomoea batatas* [L.] Lam) TERHADAP EKSPRESI TNF- α
DAN HISTOPATOLOGI JEJUNUM TIKUS (*Rattus
norvegicus*) MODEL *INFLAMMATORY
BOWEL DISEASE* YANG DIINDUKSI
INDOMETASIN**

Oleh :

DAVINCI OSWALD SIAHAAN

NIM. 145130101111001

Setelah dipertahankan didepan Majelis Penguji

Pada tanggal 2 juli 2018

dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001

drh. Dyah Ayu Oktavanie A. P., M. Biotech

NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : DAVINCI OSWALD SIAHAAN

NIM : 145130101111001

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN UBI
JALAR UNGU (*Ipomoea batatas* [L.] Lam)
TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN
HISTOPATOLOGI JEJUNUM TIKUS (*Rattus
norvegicus*) MODEL *INFLAMMATORY BOWEL
DISEASE* YANG DIINDUKSI INDOMETASIN**

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 4 Juli 2018

Yang menyatakan,

DAVINCI OSWALD SIAHAAN

NIM. 145130101111001

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN UBI JALAR UNGU (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN HISTOPATOLOGI JEJUNUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL INFLAMMATORY BOWEL DISEASE YANG DIINDUKSI INDOMETASIN

ABSTRAK

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan penyakit inflamasi pada saluran pencernaan. *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) dapat disebabkan oleh efek samping indometasin. Indometasin secara oral dengan dosis 15mg/kg BB dapat menyebabkan inflamasi akut pada jejunum. Ekstrak daun ubi jalar ungu memiliki banyak antosianin yaitu jenis flavanoid yang bekerja sebagai antioksidan dan antinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) terhadap TNF- α dan histopatologi jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) setelah mendapat paparan indometasin. Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar berumur 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram dibagi menjadi 5 perlakuan, yaitu tikus kontrol positif, tikus kontrol negatif, tikus yang diinduksi indometasin yang diberi terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dosis 600 mg/kg BB, dosis 700 mg/kg BB, dan dosis 800 mg/kg BB. Ekspresi TNF- α diamati dengan teknik imunohistokimia dan histopatologi jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) dilakukan dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin. Data dianalisis menggunakan analisa kualitatif deskriptif dari gambaran histopatologi jejunum dan ekspresi TNF- α dianalisis menggunakan ragam ANOVA dan uji lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) secara signifikan ($\alpha=0,05$) dapat menurunkan ekspresi TNF- α dan memperbaiki gambaran histopatologi jejunum pada tikus (*Rattus norvegicus*), dengan dosis terbaik 800 mg/kg BB. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dapat dijadikan terapi untuk IBD.

Kata kunci : *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), Indometasin, daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam), *Tumor necrosis faktor* (TNF- α)

**THE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT PURPLE SWEET POTATO
LEAVES (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) TOWARDS TNF- α EXPRESSION
AND JEJUNUM HISTOPATHOLOGY ON INFLAMMATORY
BOWEL DISEASE RATS (*Rattus norvegicus*)
INDUCED BY INDOMETHACIN**

ABSTRACT

Inflammatory Bowel Disease (IBD) is an inflammatory disease of the digestive tract. *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) is caused by indomethacin side effects. Indomethacin dose of 15 mg / kg BW which can cause acute inflammation of the jejunum. The Purple sweet potato leaf extract has many anthocyanins that are flavanoids that work as antioxidants and anti-inflammatories. This study was aimed to determine the effect of ethanol extract of purple sweet potato leaves (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) to TNF- α and histopathology of rat's jejunum (*Rattus norvegicus*) after receiving exposure to indomethacin. Rats (*Rattus norvegicus*) male Wistar strain aged 8-12 weeks weighing 150-200 grams divided into 5 grup, ie positive control rats, negative control rats, indomethacin induced rats treated by ethanol extract of purple sweet potato leaves (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dose 600 mg/kg BW, dose 700 mg/kg BW, and dose 800 mg/kg BW. TNF- α expression was observed by immunohistochemical and histopathologic techniques of rat's jejunum (*Rattus norvegicus*) performed with Hematoxylin and Eosin staining. Data were analyzed using descriptive quantitative analysis of jejunal histopathology and TNF- α expression were analyzed using ANOVA and Tukey's HSD (honestly significant difference) test. The results showed that ethanol extract of purple sweet potato leaves (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) significantly ($\alpha=0,05$) decrease TNF- α expression and also repiring jejunum histopathology with the best dose 800 mg/kg BW. In conclusion extract ethanol purple sweet potato leaves (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) that can be used as therapy for IBD.

Keywords : Inflammatory Bowel Disease (IBD), Indomethacin, purple sweet potato leaves (*Ipomoea batatas* [L.] Lam), Tumor necrosis factor (TNF- α)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) Terhadap Ekspresi TNF- α dan Histopatologi Jejunum Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* Yang Diinduksi Indometasin. Tugas akhir ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

Terwujudnya skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak yang mendorong dan membimbing penulis, baik ide, tenaga, maupun pemikiran. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES dan drh. Dyah Ayu Oktavianie A.P.,M. Biotech selaku dosen pembimbing atas waktu, motivasi, bimbingan, arahan yang diberikan dalam penulisan tugas akhir.
2. drh. Indah Amalia Amri, M.Sc dan drh. Galuh Chandra Agustina, M.Si. selaku dosen penguji atas kritik, saran, tanggapan maupun masukan yang diberikan.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya yang tak kenal lelah memajukan FKH UB.
4. Emmy Juliningrum, SE, MM selaku Kasubag Akademik dan Kemahasiswaan atas semangat, kritik dan saran yang diberikan.
5. Dr. drh. Djoko Winarso, MS selaku dosen pembimbing akademik atas semangat, kritik, dan saran yang diberikan.
6. Secara khusus penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada Bapak Raflan Siahaan, Ibu Nanny Ritonga, Kakak Grand Asset T. S, dan adik Caroline O. S atas doa, kasih sayang, semangat, dan dukungan

dalam bentuk moril maupun materil tiada henti kepada penulis selama menempuh pendidikan di FKH UB.

7. Rekan dan sahabat satu kelompok penelitian Desi, Hanun, Restifa, dan Laras atas semangat dan kerja samanya.
8. Kepada sahabat-sahabat Nobilla, Novrizal, Andi Citra, Bayu, Rifqi, Kholif, Hendra, Yohanes, dan Dion atas doa dan dukungan.
9. Keluarga besar A'MAZE Class 2014 atas cinta, persahabatan, semangat, inspirasi, keceriaan, dan mimpi-mimpi yang luar biasa.
10. Teman-teman seperjuangan mahasiswa FKH UB angkatan 2014 yang telah memberikan semangat dan saran yang membangun.
11. Seluruh staf dan karyawan FKH UB, yang telah membantu proses administrasi dalam pembuatan skripsi ini.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Atas bantuan, bimbingan, kritik dan saran yang diberikan penulis ucapkan beribu terima kasih. Semoga segala bantuan yang tak ternilai harganya ini menjadi amal ibadah di sisi Tuhan Yang Maha Esa. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat berharap kritik dan saran demi perbaikan selanjutnya. Akhir kata, penulis berharap semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas segala kebaikan yang telah diberikan kepada semua pihak dan semoga penulisan skripsi ini dapat bermanfaat serta menambah pengetahuan.

Malang, 4 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Batasan Masalah	5
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 <i>Inflammatory Bowel Disease</i> (IBD)	8
2.2 Indometasin.....	9
2.3 Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	11
2.4 Daun Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> [L.] Lam).....	12
2.5 Tumor Nekrosis Faktor Alfa (TNF- α) Terhadap Inflamasi.....	14
2.6 Jejunum.....	16
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN	17
3.1 Kerangka Konsep.....	17
3.2 Hipotesis Penelitian	19

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	21
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
4.2 Sampel Penelitian	21
4.3 Rancangan Penelitian.....	22
4.4 Variabel Penelitian.....	23
4.5 Materi Penelitian.....	23
4.6 Tahapan Penelitian.....	24
4.6.1 Persiapan Hewan Coba (<i>Rattus norvegicus</i>)	24
4.6.2 Pembuatan Hewan Model IBD dengan induksi indometasin.....	25
4.6.3 Penentuan Dosis dan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> [L.] Lam)	25
4.6.4 Pemberian Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea</i> <i>Batatas</i> [L.] Lam)	26
4.6.5 Pembuatan Preparat.....	26
4.6.5.1 Pengambilan Sampel (Sampling), Pemotongan Organ, dan Fiksasi	26
4.6.5.2 Pembuatan Preparat Histopatologi Organ jejunum	27
4.6.6 Uji Imunohistokimia	27
4.7 Analisis data	29
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	30
5.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> [L.] Lam) Terhadap Ekspresi TNF- α Pada Jejunum Tikus (<i>Rattus</i> <i>norvegicus</i>) <i>Inflammatory Bowel Disease</i> (IBD) Hasil Induksi Indometasin	30
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea</i> <i>batatas</i> [L.] Lam) Terhadap Gambaran Histopatologi Jejunum Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) <i>Inflammatory Bowel Disease</i> (IBD) Hasil Induksi Indometasin.....	36

BAB 6 PENUTUP.....	42
6.1 Kesimpulan.....	42
6.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	48



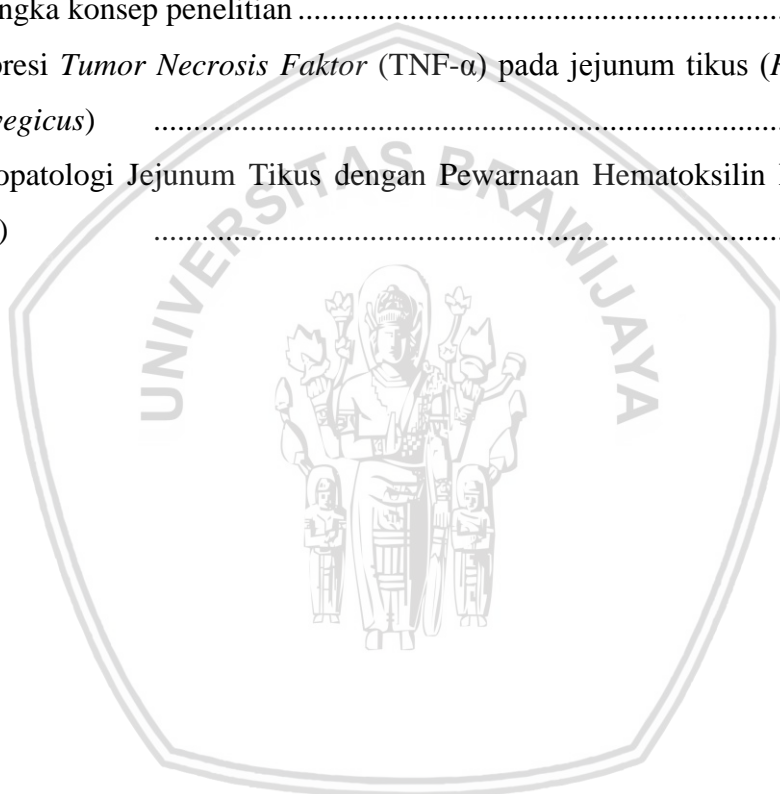
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kandungan Metabolit Sekunder Daun Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam).....	14
4.1 Rancangan kelompok penelitian	22
5.1 Ekspresi TNF-- α jejenum tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Mekanisme kerusakan usus akibat penghambatan COX-1	10
2.2 <i>Rattus norvegicus</i>	12
2.3 Daun ubi jalar ungu (<i>Ipomoea batatas</i> [L.] Lam)	13
2.4 Gambaran histologi jejunum tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	16
3.1 Kerangka konsep penelitian	17
5.1 Ekspresi <i>Tumor Necrosis Faktor</i> (TNF- α) pada jejunum tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	31
5.1 Histopatologi Jejunum Tikus dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)	38



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
IBD	<i>Inflammatory Bowel Disease</i>
NSAID	<i>Non Steroidal Anti Inflammatory Disease</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
MDA	<i>Malondialdehida</i>
HE	<i>Hematoxylin Eosin</i>
COX-1	<i>Cyclooxygenase-1</i>
COX-2	<i>Cyclooxygenase-1</i>
Cm	<i>Centimeter</i>
Mm	<i>Milimeter</i>
KU	<i>Kolitis ulseratif</i>
CD	<i>Crohn disease</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor beta</i>
INF- γ	<i>Interferon gamma</i>
IL-10	<i>Interleukin-10</i>
SDS-PAGE	<i>Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroforesis</i>



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi merupakan suatu respon protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat-zat mikrobiologik. Inflamasi adalah usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan atau melokalisasi (sekuster) baik agen yang merusak maupun jaringan yang rusak. Tanda terjadinya inflamasi adalah pembengkakan/edema (tumor), kemerahan (rubor), panas (kalor), nyeri (dolor) dan perubahan fungsi (functio laesa) (Dorland, 2002). Tujuan akhir dari respon inflamasi adalah menarik protein plasma dan fagosit ke tempat yang mengalami cedera atau terinfeksi agar dapat mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan (Corwin, 2008).

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan salah satu penyakit yang terdapat pada intestinal hewan dengan gejala inflamasi dan adanya infiltrasi seluler pada mukosa lambung, usus halus dan usus besar (Hall, 2012). *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) terbagi menjadi dua tipe, yaitu *Chron's Disease* yaitu peradangan yang terjadi mulai dari dinding mukosa mulut hingga ke anus dan *Ulcerative Colitis* yaitu peradangan yang hanya terjadi pada usus besar saja. Gejala penyakit IBD yaitu ditandai dengan diare kronik disertai dengan rasa sakit pada perut. Faktor penyebab penyakit ini antara lain idiopatik, genetik, imunologi, dan lingkungan (Friedman and Blumberg, 2010). Tidak ada data yang jelas mengenai usia, jenis kelamin, atau *breed predisposition* yang

berhubungan dengan IBD, namun penyakit ini lebih sering terjadi pada anjing German Shepherds, Yorkshire Terriers, Cocker Spaniel, dan pada kucing ras (*pure bred*). Tanda klinis penyakit IBD yang sering terjadi rata-rata memiliki umur 6,3 tahun pada anjing dan 6,9 tahun pada kucing, akan tetapi terkadang dapat ditemui pada beberapa anjing dengan umur dibawah dua tahun (Zentek *et al.*, 2017).

Indometasin merupakan salah satu obat anti inflamasi yang termasuk golongan Non Steroidal Anti Inflammatory Drug (NSAID) yang sering digunakan untuk pengobatan *osteoarthritis* dan *reumatoid arthritis* (Takeuchi *et al.*, 2003). Obat-obatan NSAID umumnya tidak bekerja spesifik dalam menghambat sikloxygenase (*non-selective cyclooxygenase inhibitor*), sehingga kerja NSAID yaitu menghambat sikloxygenase 1 (COX-1) dan 2 (COX-2). Akan tetapi NSAID dianggap lebih efektif menghambat sikloxygenase 1 (COX-1) yang berperan dalam pembentukan prostaglandin. Penurunan prostaglandin menyebabkan sekresi mukus berkurang sehingga terjadi penurunan perlindungan terhadap mukosa barier usus, yang mengakibatkan mudahnya invasi bakteri patogen (Kaser *et al.*, 2010).

Pada tikus pemberian secara oral indometasin dengan dosis 15 mg/ kg BB dapat menginduksi ulserasi mukosa, perdarahan dan edema pada usus (Aulanni'am, *et al.*, 2012). Mekanisme kerja dari indometasin secara tidak langsung akan mengaktifkan makrofag yang berpartisipasi dalam respon imun mukosa, yaitu terjadi pelepasan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan memproduksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α (*Tumor Necrosis Factor-*

alpha), IL-1, Interferon- γ dan IL-8. Produksi ROS yang meningkat menyebabkan kerusakan jejunum yang ditunjukkan dengan kerusakan vili dan mukosa jejunum serta ditandai dengan adanya edema, infiltrasi sel-sel inflamasi seperti neutrofil, basofil dan eosinofil, selain itu juga terjadi perubahan susunan histologis organ jejunum karena terjadi proses inflamasi (Scarpignto, 2006; Handoko, 2015).

Pengobatan pada penyakit IBD umumnya masih menggunakan obat-obatan kimia, seperti kortikosteroid: Prednisone, Budesoride dan Hidrocotisone. Namun karena obat-obat tersebut mempunyai insidensi dan keparahan efek samping tinggi, kortikosteroid pada saat ini sudah mulai jarang digunakan lagi (Morrow and Roberts, 2001). Obat-obatan herbal dapat menjadi alternatif untuk mengobati penyakit IBD karena dianggap lebih aman dari segi toksisitas dan efek sampingnya untuk digunakan sebagai terapi IBD. Pengobatan herbal tersebut menggunakan bahan-bahan alami yang mudah ditemukan seperti rumput laut cokelat (*Sargassum duplicatum*), daun kedondong (*Lannea coromandelica*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*) dan buah labu siam (*Sechium edule*) yang mengandung polifenol sebagai antioksidan (Aulanni'am, 2012).

Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) merupakan sejenis umbi-umbian yang sering kita jumpai dalam bentuk olahan makanan, namun dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Bagian tanaman yang bermanfaat sebagai obat yaitu akar, daun, kulit dan ubinya. Berdasarkan penggunaan dimasyarakat, daun ubi jalar ungu digunakan sebagai obat penurun panas, dan luka bakar

(Litbang, 2008). Kandungan flavanoid tidak hanya terkandung pada ubinya saja namun terkandung juga di dalam daunnya. Hasil penafisan fitokimia pada ekstrak daun ubi jalar menunjukkan bahwa daun ubi jalar ungu mengandung flavanoid dan tanin (Sulastri dkk., 2013). Flavanoid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi sebagai antiinflamasi. Mekanisme flavonoid sebagai antiinflamasi dapat melalui beberapa jalur yaitu dengan penghambatan aktivitas enzim siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase, penghambatan akumulasi leukosit, penghambatan degranulasi neutrofil, penghambatan pelepasan histamin (Nijveltd dkk., 2001). Pada daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) terdapat kandungan antosianin yang memiliki sistem ikatan rangkap terkonjugasi yang mampu menjadikan antosianin sebagai antioksidan. Bagian daun memiliki kandungan antioksidan dan komponen fitokimia yang lebih tinggi dibandingkan bagian umbinya (Mun Hue *et al.*, 2012). Melihat kandungan dan fungsi dari daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) tersebut, diperkirakan daun ubi jalar ungu memiliki manfaat untuk digunakan sebagai terapi penyakit IBD.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dalam mengobati kondisi inflamasi pada penyakit IBD pada tikus (*Rattus Norvegicus*) pasca induksi indometasin dengan cara mengamati ekspresi TNF- α dan gambaran Histopatologi organ jejunum.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan berikut:

1. Bagaimana pengaruh terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) terhadap ekspresi *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) pada jaringan jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD pasca induksi indometasin ?
2. Bagaimana pengaruh terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) terhadap gambaran Histopatologi jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD pasca induksi indometasin ?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan coba yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) usia 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram, diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penggunaan hewan coba ini telah mendapatkan sertifikasi dari komisi Etik Universitas Brawijaya dengan No. 859-KEP-UB (**Lampiran 1**).
2. Pembuatan hewan coba model IBD dilakukan dengan pemberian indometasin pada tikus model IBD yang diberikan satu kali secara per oral (po) dengan dosis 15 mg/kg BB (Aulanni'am, 2012).
3. Daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan

Umbi (BALITKABI) Malang. Tanaman diekstraksi dengan etanol dengan konsentrasi 70 % dan akan dideterminasi oleh Balai Materia Medica Kota Batu, Jawa Timur.

4. Terapi Ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) diberikan dengan dosis 600 mg/kg BB, 700 mg/kg BB dan 800 mg/kg BB selama 14 hari (Riansyah, 2015).
5. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah ekspresi TNF- α dengan metode imunohistokimia dan Histopatologi jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) yang dilakukan dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H & E).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan, maka tujuan penelitian ini adalah :

1. Membuktikan bahwa terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dapat menurunkan ekspresi *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) pada jaringan jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD pasca induksi indometasin.
2. Membuktikan bahwa terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dapat memperbaiki gambaran Histopatologi jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD pasca induksi indometasin.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi mengenai fungsi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam)dalam menekan inflamasi pada jejunum hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD hasil induksi indometasin berdasarkan ekspresi TNF- α dan gambaran histopatologi jejunum.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Inflammatory Bowel Disease (IBD)*

Inflammatory Bowel Disease (IBD) adalah suatu penyakit inflamasi kronis pada saluran gastrointestinal yang ditandai dengan adanya peradangan dan infiltrasi seluler pada mukosa lambung, usus halus dan usus besar (Hall, 2012). IBD dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu *crohn's disease (CD)* yang merupakan inflamasi kronik pada usus halus dan *ulcerative colitis (UC)* merupakan inflamasi kronis pada usus besar. Gejala klinik IBD secara umum meliputi diare kronik yang disertai darah dan lendir, nyeri abdominal, penurunan berat badan, dan demam (Martins and Peppercorn, 2004).

Penyebab IBD belum diketahui dengan jelas, tetapi menurut Friedman (2010), terdapat beberapa faktor yaitu organisme patogenik (*Giardia sp*, *Toxoplasma sp*, *Mycobacteria sp*, *Prototheca sp*, *Pythium insidiosa*, *Helicobacter pylori* dan *enterohepatic Helicobacter*), adanya respon imun terhadap antigen intraluminal (contohnya protein dari susu sapi), karena efek samping obat-obatan seperti penggunaan NSAID, serta adanya agen penyebab idiopatik seperti Lymphocytic-plasmacytic enteritis (LPE), Eosinophilic gastroenterocolitis (EGE), Granulomatous enteritis, dan Neutrophilic enteritis (Hall, 2012).

Pada individu rentan dan dipengaruhi oleh faktor genetik, defek imun dan lingkungan sehingga terjadi proses inflamasi pada dinding usus (Kaser *et al*, 2010). Penggunaan *Non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)* dapat menghambat kerja enzim siklooksigenase (COX) yang dihubungkan dengan patogenesis IBD.

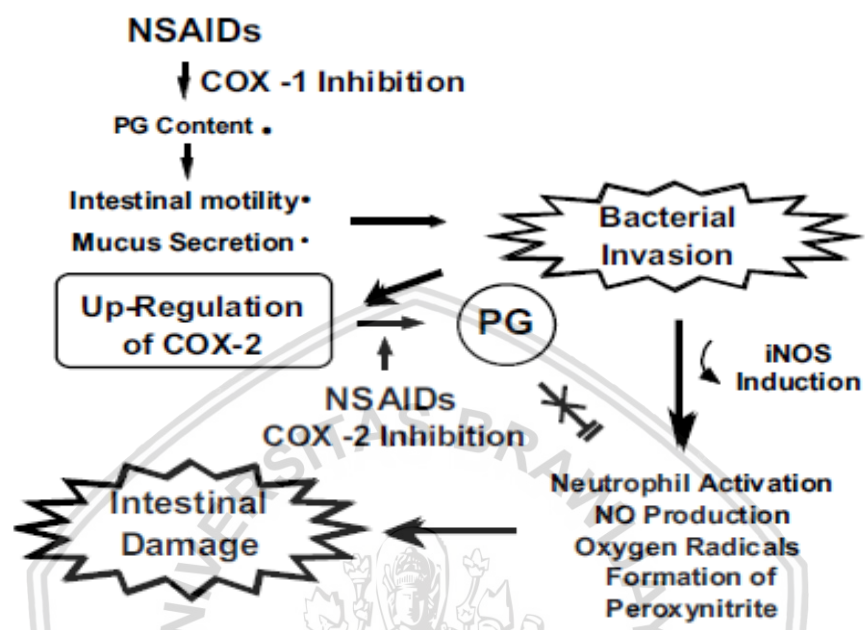
Penghambatan COX-1 dan COX-2 akan menyebabkan penghambatan pembentukan prostaglandin (PGE₂) yang merupakan faktor protektif usus, yang diikuti peningkatan sekresi HCL dan penurunan sekresi mukus sehingga lambung mengalami inflamasi. Inflamasi tersebut menyebabkan kerusakan jaringan dan meningkatkan aktivitas fagositosis dari makrofag. Fagositosis makrofag merangsang keluarnya sitokin proinflamatori, peningkatan mediator inflamasi, serta peningkatan produksi Reactive Oxide Species (ROS) yang akhirnya menyebabkan terjadinya *Inflammatory Bowel Disease (IBD)* (Kaser *et al.*, 2010).

Respon imun dimulai ketika limfosit T sitotoksik (CD8+) atau sel helper T CD4+ pada lumen usus mengenali antigen (Neuman, 2004). Pengaktifan sel T helper akan menghasilkan sitokin. Sitokin ini akan berperan pada epitel usus secara langsung akan mengaktifkan makrofag untuk melepaskan mediator inflamasi dalam jumlah besar seperti Reactive Oxygen Spesies (ROS). Nitric Oxide (NO) dan TNF α . TNF- α yang selanjutnya akan merekrut leukosit dan menyebabkan inflamasi terus menerus, sehingga dapat merusak jaringan usus atau nekrosis (Neuman, 2011).

2.2 Indometasin

Indometasin merupakan satu obat yang termasuk ke dalam golongan *Non Steroidal Antiinflammation Drugs* (NSAIDs) dan merupakan turunan indol termetilasi. Indometasin dapat digunakan untuk pengobatan pada arthritis dan inflamasi, seperti nyeri pada penyakit *osteoarthritis*, *rheumatoid arthritis*, *ankylosing spondyliti*, *bursitis*, dan *tendinitis* (Morrow & Roberts, 2001). Penggunaan indometasin pada dosis tinggi dapat menimbulkan efek samping

seperti gangguan pencernaan, reaksi anafilaksis, dermatitis, hipersensitivitas, serta gangguan pada sistem saraf pusat (Bures, 2011).



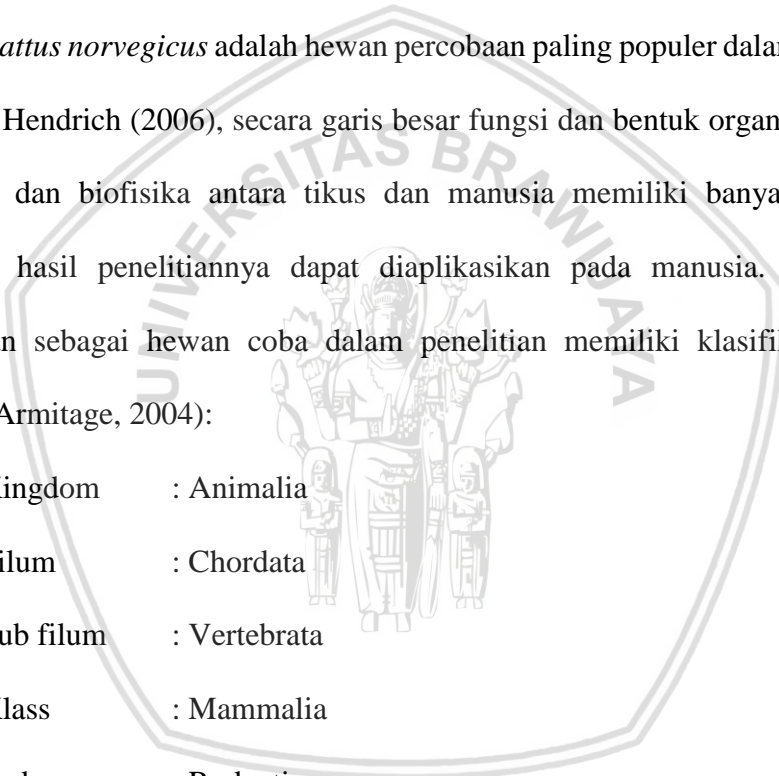
Gambar 2.1 Mekanisme kerusakan usus akibat penghambatan COX-1 oleh indometasin (Takeuchi *et al.*, 2003).

Mekanisme kerusakan usus akibat indometasin ditunjukkan oleh Gambar 2.1. Indometasin menghambat COX-1 sehingga menyebabkan penurunan prostaglandin, akibat penurunan prostaglandin mukosa maka tidak ada barier mukosa akibat penurunan sekresi dari mukosa dan terjadi peningkatan motilitas intestinal, selanjutnya ada invasi dari enterobakteri. Invasi bakteri menyebabkan adanya aktivasi makrofag, aktivasi neutrofil, induksi iNOS, produksi radikal NO, pembentukan peroksi nitrit (RNS) dan pembentukan oksigen radikal (ROS) sehingga menyebabkan kerusakan usus. Penghambatan COX-1 sebenarnya dapat meningkatkan pengaturan ekspresi COX-2, tetapi karena indometasin dapat menghambat COX-2 maka produksi prostaglandin dapat ditekan. Oleh karena itu, indometasin dapat meredakan gejala peradangan seperti nyeri, tetapi dapat

menyebabkan kerusakan usus (Takeuchi *et al.*, 2003). Kelompok tikus sakit (IBD) diinduksi indometasin dengan dosis 15 mg/kg BB secara oral. Tikus dinyatakan IBD setelah 24 jam pemaparan indometasin yang diketahui dari kerusakan mukosa (vili) jejunum usus halus berdasarkan hasil histopatologinya (Aulanni'am *et al.*, 2012).

2.3 Tikus (*Rattus norvegicus*)

Rattus norvegicus adalah hewan percobaan paling populer dalam penelitian. Menurut Hendrich (2006), secara garis besar fungsi dan bentuk organ serta proses biokimia dan biofisika antara tikus dan manusia memiliki banyak kesamaan sehingga hasil penelitiannya dapat diaplikasikan pada manusia. Tikus yang digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian memiliki klasifikasi sebagai berikut (Armitage, 2004):



Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Klass	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Sub Ordo	: Sciurognathi
Familia	: Muridae
Sub Familia	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus noervegicus</i> strain Wistar



Gambar 2.2 *Rattus norvegicus* (Besselsen, 2004)

Rattus norvegicus adalah hewan percobaan paling populer dalam penelitian yang berkaitan dengan pencernaan karena memiliki saluran pencernaan dengan tipe monogastrik. Hewan ini dipakai dengan pertimbangan yaitu pola makan omnivore atau pemakan segala makanan (Besselsen, 2004). Kebutuhan nutrisi atau pakan tikus *Rattus norvegicus* yakni 28 g/hari yang bisa didapatkan dari ikan, daging, biji-bijian dan lain-lain. Penggunaan hewan coba ini juga disebabkan karena tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar memiliki sistem reproduksi menyerupai mamalia besar. *Rattus norvegicus* sering digunakan sebagai hewan coba penelitian karena memiliki beberapa keunggulan, yaitu pemeliharaan dan penanganan mudah, kemampuan reproduksi tinggi dan masa kebuntingan singkat (Sirosis, 2005).

2.4 Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam)

Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) adalah tanaman herba merayap yang halus, dengan daun hijau cerah disertai dengan cukup banyak pigmentasi ungu terutama disepanjang tangkai dan jari-jari daunnya (Antia *et al.*, 2006). Daun ubi jalar ungu lebih tersedia untuk jangka waktu lebih lama karena tanaman ini kurang

sensitif terhadap kekeringan, toleran terhadap hujan lebat, harganya murah, tumbuh diberbagai zona ekologi dan memerlukan waktu yang singkat untuk memasak (Mwanri AW dan Laswai, 2011).

Dalam pemanfaatannya 95-99% daun ubi jalar ungu dibuang sedangkan 2-5% sisanya digunakan sebagai pakan ternak. Daun yang masih kurang pemanfaatannya itu dapat menjadi sumber antioksidan alami. Dalam beberapa tahun terakhir, beberapa penelitian menunjukkan bahwa fitokimia dalam daun ubi jalar mengandung polifenol yang dapat memberikan manfaat mengatasi inflamasi pada hewan (Ghasemzadeh *et al.*, 2012). Taksonomi tumbuhan daun ubi jalar ungu adalah sebagai berikut (Huaman, 1992) :



Gambar 2.3 Daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) (Ruter, 2017)

Kingdom	: Plantae
Divisis	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanaceae
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: Ipomoea
Species	: <i>Ipomoea batatas</i> [L.] Lam

Hasil penelitian yang dilaporkan Riansyah (2015) terhadap daun ubi jalar ungu menunjukkan bahwa adanya aktivitas antiinflamasi pada ekstrak daun ubi jalar dengan dosis yang efektif yaitu 600 mg/kg bb memberikan persentase inhibisi sebesar 20,93%, sedangkan pada dosis 300 mg/kg bb ekstrak daun ubi jalar ungu tidak dapat menginhibisi edema yang ditunjukkan dengan hasil negatif pada persentase inhibisinya yaitu sebesar -5,19%. Senyawa yang diduga berperan dalam menghambat peradangan tersebut adalah senyawa flavonoid dengan penghambatan COX dan lipooksigenase.

Daun Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam)	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Tanaman	Kandungan Metabolit Sekunder									
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J

Keterangan :

A	: Triterpenoid	G	: Monoterpen
B	: Alkaloid	H	: Seskuiterpen
C	: Tanin	I	: Steroid
D	: Flavanoid	J	: Polifenolat
E	: Saponin	+	: Terdeteksi
F	: Kuinon	-	: Tidak terdeteksi

Tabel 2.1 Kandungan Metabolit Sekunder Daun Ubi Jalar ungu (*Ipomea batatas* (L.) Lam) (Riansyah, 2015).

2.5 Tumor Nekrosis Faktor Alfa (TNF- α) Terhadap Inflamasi

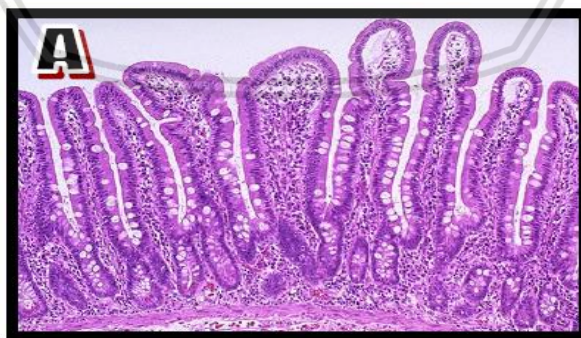
Tumor Nekrosis Faktor Alfa (TNF- α) adalah sitokin proinflamasi utama pada respon inflamasi akut. TNF- α yang berlebih pada sel akan menyebabkan adanya agregasi dan aktivasi neutrofil serta pelepasan enzim protease. Protease merupakan enzim yang bersifat proteolitik sebagai respon pertahanan tubuh terhadap bahan patogen. Enzim protease yang berperan dalam kerusakan jaringan

(Green, Eynon dan Flavel, 2000). TNF- α menjadi mediator untuk imunitas alami dan imunitas spesifik (Abbes *et al.*, 2004). Penyebab teraktivasi TNF- α adalah faktor-faktor eksogen dan endogen. Faktor eksogen merupakan antigen atau benda asing yang berasal dari luar tubuh seperti enterotoksin, protein dinding sel jamur, virus, dan komponen parasit. Faktor endogen meliputi sitokin-sitokin yang lain dibawah kondisi yang sama yakni IL-1, IFN- γ , TNF- α (Green, Eynon dan Flavel, 2000). TNF- α adalah suatu sitokin yang bersifat pleiotropik, yang sebagian besar dihasilkan oleh monosit, makrofag dan sel T (Navaro-Gonzales and Fernandez, 2008).

Faktor eksogen dan endogen dapat mengakibatkan aktivasi dari makrofag (proses fagositosis) yang dilakukan sebagian dari ROS. Lalu tubuh merespon keadaan seperti ini dengan sistem imun dengan mengaktifasi I κ B yang mengalami degradasi proteosomal dan NF- κ B mengalami transkripsi di nukleus. Di dalam nukleus, Faktor NF- κ B berikatan dengan target gen dan menstimulasi terjadinya transkripsi gen inflamasi. Aktivasi NF- κ B yang mengalami peningkatan direspon oleh makrofag untuk memproduksi dan mensekresi sitokin proinflamasi TNF- α sebagai indikator terjadinya inflamasi (Giugliano *et al.*, 2006). Cara Kerja sitokin TNF- α adalah dengan mengatur aktivasi, diferensiasi, dan proliferasi sel dalam proses inflamasi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009). Meningkatnya kadar TNF- α terdapat pada keadaan inflamasi akut dan kronik (Popa *et al.*, 2007).

2.6 Jejunum

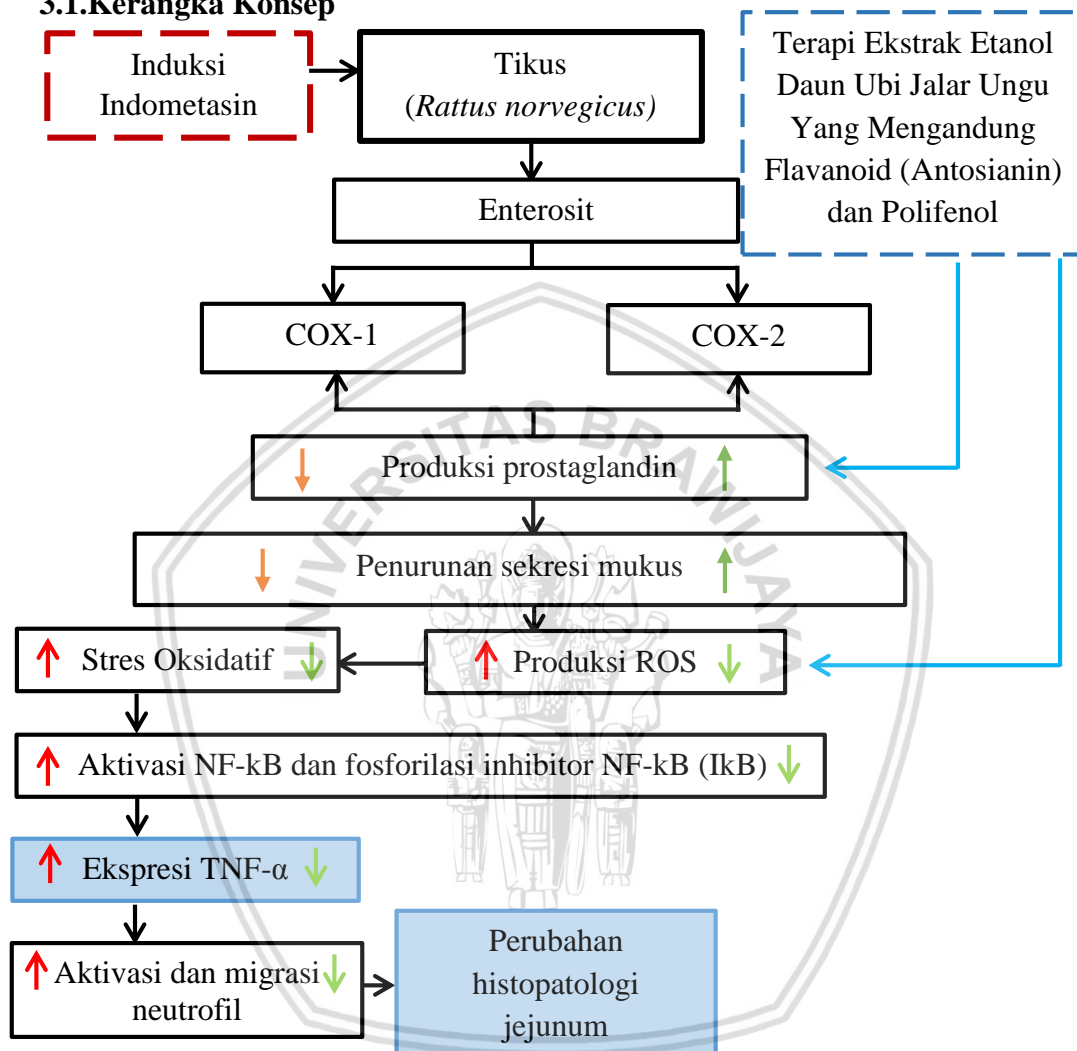
Usus halus terdiri dari duodenum, jejunum, dan ileum. Jejunum memiliki panjang $\frac{2}{5}$ dari usus halus. Secara makroskopik terlihat dengan banyak lipatan melingkar paralel berjalan pada mukosa. Jejunum dan ileum yang melekat pada dinding posterior abdomen oleh mesenterium. Jejunum memiliki pola histologis khas seperti seluruh usus halus, yaitu mukosa, submukosa, muskularis, dan serosa. Mukosa dilapisi oleh epitel kolumnar sederhana menuju lumen (*lamina epithelialis*). Ini berisi enterosit dan sel goblet. Lapisan epitel diikuti oleh lapisan jaringan ikat (*lamina propria*) dan lapisan otot (*lamina muskularis mukosa*). Submukosa terdiri dari jaringan ikat longgar dengan pembuluh darah, kelenjar getah bening, dan pleksus Meissner (Mescher, 2013). Pada gambaran histologi jejunum normal memiliki ukuran vili lebih kecil, terdapat sel goblet pada tunika mukosa, serta susunan antar vili rapi dan rapat, Menurut Geboes, 2003 jejunum normal memiliki mukosa dengan vili yang tersusun rapat, sel epitel kolumnar, lapisan submukosa, lapisan muskuler, dan lapisan serosa.



Gambar 2.1. Histologi Jejunum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* (HE) (Feakins, 2013).

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Kerangka Konseptual Penelitian

Keterangan gambar :

- Induksi Indometasin : Induksi Indometasin
- Terapi : Terapi
- Mekanisme dalam tubuh tikus : Mekanisme dalam tubuh tikus
- Variabel yang diteliti : Variabel yang diteliti
- ↑ : Efek induksi indometasin
- ↓ : Efek terapi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diinduksi menggunakan indometasin yang berfungsi untuk menghambat enzim siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2) yang berfungsi dalam pembentukan prostaglandin. Induksi indometasin yang menghambat COX-1 dan COX-2. Penurunan produksi COX-1 menyebabkan penurunan produksi TXA₂ yang berfungsi sebagai vasokonstriksi pembuluh darah, penurunan produksi mukus yang menyebabkan hilangnya perlindungan usus.

Penurunan produksi mukus menyebabkan terganggunya barrier mukosa di intestinal, sehingga memudahkan mikroflora memasuki intestinal. Hal inilah yang menyebabkan mikroflora masuk dan menyebabkan interaksi antara mukosa dan mikroflora yang dikenali sebagai antigen. Antigen yang masuk ke dalam intestinal menyebabkan aktivasi makrofag untuk memfagositosis antigen, namun makrofag bekerja dengan cara melepaskan molekul radikal bebas (ROS) seperti H₂O₂, O₂⁻, dan OH. Jumlah radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh inilah yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif dalam tubuh. Stres oksidatif memicu fosforilasi inhibitor NF-κB (IκB) dan aktivasi NF-κB yang nantinya akan bermigrasi ke dalam nukleus dan mengaktifkan lebih banyak makrofag lainnya. Makrofag akan mengekspresikan sitokin proinflamasi seperti TNF-α yang berperan dalam patogenesis IBD. Peningkatan produksi TNF-α akan menyebabkan neutrofil menjadi teraktivasi dan bermigrasi ke dalam jaringan. Migrasi neutrofil akan mempengaruhi kerusakan sel epitel di jejunum dan menyebabkan perubahan gambaran histopatologi jejunum.

Daun ubi jalar ungu memiliki kandungan flavonoid dan polifenol yang tinggi. Kandungan flavonoid dalam daun ubi jalar ungu dapat berperan sebagai inhibitor yang kuat terhadap senyawa nitrogen reaktif, selain itu juga mampu menghambat aktifitas enzim siklooksigenase (Sulastri *et al.*, 2013) Selain itu daun ubi jalar ungu mampu untuk menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α . Menurut Riansyah (2015), kandungan lain yang ditemukan di daun ubi jalar ungu ialah polifenol yang bekerja sebagai agen antioksidan untuk melawan radikal bebas, polifenol juga berperan dalam penurunan stres oksidatif, apabila stres oksidatif dapat diturunkan maka NF-kB dan fosforilasi inhibitor NF-kB tidak teraktivasi, sehingga fosforilasi inhibitor NF-kB tidak teragregasi oleh proteosom dan terjadi penurunan ekspresi sitokin. Produksi TNF- α yang menurun dapat menyebabkan penurunan aktivitas neutrofil dan mengurangi tingkat keparahan inflamasi sehingga kerusakan pada jejunum dapat berkurang.

3.2. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang sudah dipaparkan, maka hipotesis yang dapat diajukan dalam penelitian ini ialah sebagai berikut :

1. Pemberian terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dapat menurunkan ekspresi TNF- α pada jejunum tikus model *Inflammatory Bowel Disease* yang diinduksi dengan menggunakan indometasin.

2. Pemberian terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dapat mengurangi terjadinya inflamasi sehingga mampu untuk memperbaiki sel epitel yang rusak dan penurunan infiltrasi dari sel radang yang dapat dilihat di gambaran histopatologi jejunum.



BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2018 – Maret 2018 di Laboratorium Farmakologi, Jurusan Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.

4.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan jenis kelamin jantan strain Wistar berumur 8-12 minggu dengan berat badan antara 150-200 gram. Proses adaptasi dengan kondisi laboratorium (aklimitasi) dilakukan selama tujuh hari. Estimasi besar sampel dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut (Kusringrum, 2008):

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t= jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan di atas, maka untuk 5 macam kelompok perlakuan diperlukan ulangan minimal 4 kali dalam setiap kelompok sehingga total hewan coba yang diperlukan sebanyak 20 ekor.

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok perlakuan secara acak (Tabel 4.1). Setiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus dengan pemberian perlakuan berbeda-beda. Kelompok 1 adalah tikus yang tidak diberi perlakuan sebagai kontrol negatif. Kelompok 2 adalah tikus yang diberi indometasin sebagai kontrol positif. Kelompok 3 adalah tikus yang diinduksi indometasin kemudian diterapi menggunakan ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dengan dosis 600 mg/kg BB. Kelompok 4 adalah tikus yang diinduksi indometasin kemudian diterapi menggunakan ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dengan dosis 700 mg/kg BB. Kelompok 5 adalah tikus yang diinduksi indometasin kemudian diterapi menggunakan ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dengan dosis 800 mg/kg BB, Skema Penelitian terdapat pada **Lampiran 1**.

Tabel 4.1 Rancangan kelompok penelitian

Variabel yang diamati	Ulangan			
Ekspresi TNF- α dan Histopatologi Jejunum	1	2	3	4
Kelompok 1 (kontrol negatif)				
Kelompok 2 (kontrol Positif)				
Kelompok 3 (terapi 600 mg/kg BB)				
Kelompok 4 (terapi 700 mg/kg BB)				
Kelompok 5 (terapi 800 mg/kg BB)				

4.4 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

Variabel Bebas : Induksi indometasin dan terapi ekstrak etanol daun ubi jalar

ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam).

Variabel tergantung : Ekspresi *Tumor Necrosis Alpha* (TNF- α) dan histopatologi Jejunum.

Variabel kendali : Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan Strain Wistar berumur 8-12 minggu dengan berat badan 150 – 200 gram, pakan tikus, dan kondisi eksperimental (lingkungan kandang, suhu, dan kelembabann).

4.5 Materi Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang tikus, spuit 5 ml, spuit 1 ml, gunting, objek glass, scalpel, mortar, microtube, water bath 100°C, alat bedah, *vortex*, kertas saring, micropipet, tabung reaksi, cawan petri, tabung erlenmeyer, corong kaca, tabung *ependorf*, alat sentrifugasi, *cover glass*, alat sonikasi, *Freezer*, mikroskop, alat bedah, labu ukur, pipet tetes, gelas ukur 100 ml, gelas kimia, pengaduk kaca, tabung polipropilen, pH meter digital, penjepit, inkubator, spektrofotometri UV, oven, saringan, parutan, *autoclave*, spuit.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Indometasin dengan dosis 15 mg/kg BB tikus, ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dosis 600 mg/kg BB, dosis 700 mg/kg BB, dan dosis dosis 800 mg/kg BB, PBS- Azida, KCl, KH₂PO₄, NaCL,

$\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{H}_2\text{O}$, NaOH , PBS-*Tween* : PMSF (*Poly Methyl Sulfonyl Fluoride*) 1:9, pasir kwarsa, Etanol 70%, Etanol 80%, Etanol 90%, Etanol 95%, air hangat, obyek glasss, Tris-HCl, kasein, tirosin, buffer fosfat pH 7, parafin, akuades steril, *Tri Chloro acetic Acid* (TCA), alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 95%, Antibodi Primer (Rat Anti TNF- α), Antibodi sekunder berlabel biotin (*Goat Anti Rat biotin labeled*), larutan PBS, PFA 4%, 3% H_2O_2 , *Strep Avidin Horse Radish Peroxidase* (SA-HRP), *Bovine Serum Albumin* (BSA), *Diamino Benzidine* (DAB), Mayer *Hematoxylen*, *Entellan*, dan *Xylol*.

4.6 Tahapan Penelitian

4.6.1 Persiapan Hewan Coba (*Rattus norvegicus*)

Tikus yang digunakan untuk penelitian pertama-tama diaklimatisasi selama tujuh hari agar beradaptasi dengan lingkungan laboratorium. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dan setiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus tiap kandang. Kandang tikus terbuat dari bahan *stainless steel*. Suhu optimum untuk kandang tikus adalah 22-24 °C dan kelembaban udara 50-60 % dengan ventilasi yang cukup. Kandang tikus harus berlokasi di tempat yang tenang, sehingga tikus tidak stres. Tikus di beri yang mengandung karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan air.

4.6.2 Pembuatan Hewan Model IBD dengan Induksi Indometasin

Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) di induksi indometasin secara per oral dengan dosis 15mg/kg BB tikus berdasarkan Aulani'am (2012). Tikus yang digunakan rata – rata memiliki berat badan 160 gram. Dosis indometasin yang diberikan pada setiap tikus adalah 2,4 mg/tikus. Indometasin dilarutkan terlebih dahulu menggunakan Na₂CO₃ (Natrium Karbonat) 5% sebelum diinduksikan pada tikus.

Perhitungan dosis indometasin dan Na₂CO₃ yang diberikan secara per oral adalah sebagai berikut:

Kebutuhan indometasin:

$$15 \text{ mg/kg BB} \times 0,16 \text{ kg} = 2,4 \text{ mg/tikus}$$

Indometasin dihomogenkan dengan pelarut Na₂CO₃ menggunakan vorteks kemudian diinduksikan pada tikus menggunakan sonde dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil induksi indometasin dapat mengakibatkan kerusakan sel-sel pada jejunum.

4.6.3 Penentuan Dosis dan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam)

Sampel berupa daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dicuci bersih, sampel yang telah dicuci bersih selanjutnya daun dikeringkan dan dihaluskan menggunakan blender. Serbuk daun ubi jalar ungu selanjutnya diekstraksi dengan etanol 70% secara maserasi dengan perbandingan 0,1 gram serbuk daun dalam 100 mL etanol 70% selama 1

jam selanjutnya disaring menggunakan *buchner*. Proses maserasi dilakukan hingga filtrat menjadi jernih. Filtrat selanjutnya diuapkan menggunakan pelarut alkohol 40⁰ C dengan *rotary evaporator* (Riansyah *et al.*, 2015).

Penentuan dosis ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) berdasarkan penelitian Riansyah *et al.*, (2015), yaitu 300 mg/kg BB, 600 mg/kg BB dan 900 mg/kg BB, namun dari penelitiannya dosis 300 mg/kg BB belum efektif, dosis 600 mg/kg BB efektif dan dosis 900 mg/kg BB toksik, sehingga peneliti merubah dosisnya menjadi 600 mg/kg BB, 700 mg/kg BB dan 800 mg/kg BB. Perhitungan dosis dapat dilihat pada **lampiran 4**.

4.6.4 Pemberian Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam)

Pemberian Ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dilakukan pada kelompok 3,4, dan 5. Metode pemberian volume terapi per oral tiap ekor tikus dengan dosis 600 mg/kg BB pada kelompok 3, 700 mg/kg BB pada kelompok 4, dan 800 mg/kg BB pada kelompok 5. Pemberian terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dilakukan selama 2 minggu berturut-turut (Riansyah *et al.*, 2015).

4.6.5 Pembuatan Preparat Histopatologi (Lampiran 5)

4.6.5.1 Pengambilan Sampel (*Sampling*), Pemotongan Organ dan Fiksasi

Pengambilan organ jejunum pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan pada hari ke-16 setelah seluruh perlakuan

dilakukan. Langkah pertama yang dilakukan adalah dislokasi hewan coba pada bagian leher kemudian dilakukan pembedahan. Pembedahan dilakukan pada bagian perut, tikus diletakkan secara rebah dorsal pada papan pembedahan, kemudian diambil organ jejunum, organ jejunum dibilas dengan NaCl-fisiologis. Organ dimasukkan dalam larutan paraformaldehid 4% (PFA).

4.6.5.2 Pembuatan Preparat Histopatologi Organ Jejunum

Pertama organ jejunum direndam dalam larutan formaldehide 10%. Selanjutnya direndam dalam etanol 70% selama 24 jam, lalu dipindahkan dalam etanol 80% selama 2 jam, etanol 90% selama 20 menit, etanol 95% selama 20 menit dan etanol absolut selama 20 menit, langkah ini dilakukan sebanyak 3 kali. Selanjutnya organ jejunum dipindahkan ke larutan xylol selama 20 menit sebanyak 2 kali. Parafin dicairkan pada suhu 60-63°C. Organ jejunum dimasukkan dalam parafin cair yang dituang ke dalam wadah selama 30 menit. Setelah beberapa saat parafin akan memadat dan organ jejunum berada dalam blok parafin. Langkah selanjutnya adalah proses pemotongan dengan ketebalan 5 μ m. Irisan jaringan yang telah berbentuk pita kemudian ditempelkan pada gelas objek serta menggunakan pewarnaan HE dan pengamatan preparat histopatologi jejunum menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100 – 1000 x.

4.6.6 Uji Imunohistokimia (Lampiran 6)

Langkah-langkah uji imunohistokimia yaitu preparat direndam kedalam xylol I, xylol II, alkohol bertingkat (100%, 90%, 80%, 70%),

aquadest selama 1 x 5 menit kemudian preparat dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 3 x 5 menit selanjutnya ditetesi 3% H₂O₂ selama 20 menit. Dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali dan diblok dengan BSA 1% dalam PBS selama 30 menit dengan suhu ruang. Dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali, selanjutnya diinkubasi dengan antibodi primer (Anti rat TNF- α) selama 24 jam dengan suhu 4°C dan dilakukan pencucian kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Berikutnya diinkubasi dengan antibodi sekunder berlabel biotin (*Goat Anti Rat biotin labeled*) selama 1 jam dengan suhu ruang. Dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali.

Preparat ditetesi dengan SA-HRP (*Strep Avidin Horse Radish Peroxidase*) selama 40 menit dengan suhu ruang. Kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit sebanyak 3 kali. Ditetesi dengan DAB (*Diamano Benzidine*) selama 10 menit dengan suhu ruang. Dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali. Selanjutnya counterstaining menggunakan *mayer Hematoxylen* selama 5 menit. Dicuci dengan air mengalir, dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Tahapan terakhir dimounting dengan entellan dan ditutup dengan cover glass. Hasil berupa preparat immunohistokimia yang diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X (Murch *et al.*, 2013). Untuk ekspresi TNF- α dilakukan pengamatan lima bidang pandang dengan penilaian rata-rata persentase area dengan program *Axio Vision*.

4.7 Analisis Data

Data penelitian ini berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif berupa gambaran histopatologi jejunum yang dianalisis deskriptif serta didukung data. Data kuantitatif berdasarkan hasil pengukuran *Tumor Necrosis Alpha* (TNF- α) dianalisis dengan uji ragam ANOVA dengan $\alpha = 5\%$ dan dilanjutkan dengan uji BNJ untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

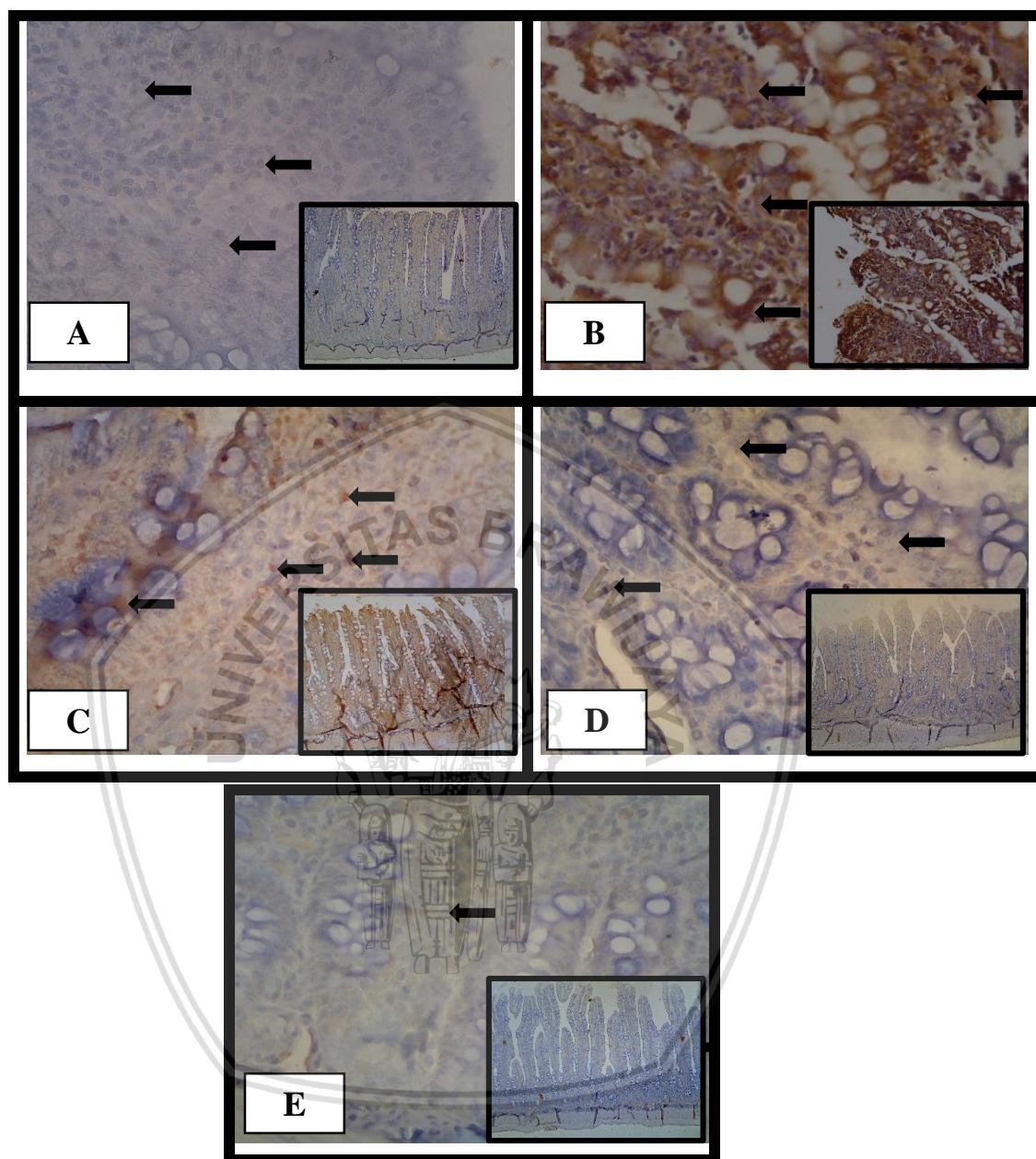


BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) Terhadap Ekspresi TNF- α Pada Jejunum Tikus (*Rattus norvegicus*) *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Hasil Induksi Indometasin

Tumor Necrosis Factor (TNF- α) salah satu sitokin yang dihasilkan oleh makrofag yang sangat penting pada proses inflamasi. Ekspresi TNF- α diamati dengan metode imunohistokimia. Warna coklat pada gambaran jejunum (**Gambar 5.1**) yang ditunjukkan dengan tanda (↑) merupakan ekspresi dari TNF- α . Menurut Murch *et al.*, (2013), pada penyakit *Inflammatory bowel disease* (IBD) ekspresi TNF- α terdapat pada sel makrofag. Timbulnya warna coklat disebabkan oleh antigen dalam jejunum berikatan dengan antibodi primer (*Rat Anti TNF- α*) selanjutnya dilabeli oleh antibodi sekunder (*Goat Anti Rat biotin labeled*), setelah semua berikatan dilakukan penambahan substrat *Diamino benzidine* (DAB) yang bertujuan untuk menghasilkan warna coklat pada sitokin (TNF- α).

Imunohistokimia digunakan untuk mengamati Ekspresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α) pada jejunum tikus terhadap 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif (-), kelompok kontrol positif (+) yang diinduksi indometasin, kelompok tikus yang diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 600 mg/kg BB (P1), kelompok tikus yang diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 700 mg/kg BB (P2), kelompok tikus yang diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 800 mg/kg BB (P3) yang dapat ditunjukkan pada gambar berikut :



Gambar 5.1 Ekspresi *Tumor Necrosis Faktor* (TNF- α) pada jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) hasil induksi indometasin (Perbesaran 400X dan 100X).

Keterangan : A. Jejunum tikus kontrol negatif; B = Jejunum tikus yang diinduksi indometasin (kontrol positif); C = Jejunum tikus yang diinduksi indometasin dan diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 600 mg/kg BB; D = Jejunum tikus yang diinduksi indometasin dan diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 700 mg/kg BB; E = Jejunum tikus yang diinduksi indometasin dan diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 800 mg/kg BB. Panah hitam (↑) mengarah pada ekspresi TNF- α .

Untuk mengetahui tingkat ekspresi TNF- α dilakukan dengan pengukuran presentase area menggunakan *software Immunoratio*. Pada hasil akan diketahui peningkatan dan penurunan ekspresi TNF- α antar kelompok. Peningkatan dan penurunan ekspresi TNF- α dapat dilihat pada **Tabel 5.1**

Tabel 5.1 Ekspresi TNF- α jejunum tikus (*Rattus norvegicus*)

Kelompok	Rata-rata Ekspresi TNF- α (%)	Ekspresi TNF- α	
		Peningkatan Terhadap Kontrol (-)	Penurunan Terhadap Kontrol (+)
Kontrol (-)	0,48 \pm 0,010 ^a	0	0
Kontrol (+)	0,75 \pm 0,027 ^d	56,25	-
P(1)	0,67 \pm 0,008 ^c	-	10,6
P(2)	0,64 \pm 0,015 ^b	-	14,6
P(3)	0,49 \pm 0,010 ^a	-	34,6

Keterangan : Perbedaan rata-rata ekspresi TNF- α jejunum tikus, Notasi a,b,c dan d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antara kelompok perlakuan.

Hasil analisa statistik (terdapat pada **Lampiran. 7**) yang dimulai dengan uji normalitas yang menunjukkan bahwa nilai $p > 0,05$. Nilai tersebut membuktikan bahwa data hasil perhitungan ekspresi TNF- α terdistribusi normal. Analisa statistik selanjutnya uji homogenitas dan didapatkan nilai $p > 0,05$. Nilai tersebut membuktikan bahwa data hasil penelitian memiliki varian yang homogen. Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA*, diketahui bahwa terdapat perbedaan nyata antar kelompok penelitian atau dapat dikatakan bahwa terdapat pengaruh pemberian terapi ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) terhadap ekspresi TNF- α pada tikus yang diinduksi indometasin. Hal tersebut dibuktikan melalui nilai $p < 0,05$, adanya perbedaan tersebut maka diperlukan uji lanjutan dengan uji *Tuckey*. Berdasarkan uji *Tuckey* didapat empat notasi berbeda yang

menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif berbeda nyata dengan kontrol positif, sementara kontrol positif berbeda nyata dengan ketiga perlakuan. Uji *Tuckey* juga menunjukkan perbandingan antara perlakuan terapi dosis 600 mg/kg BB, 700 mg/kg BB dan 800 mg/kg BB.

Pada tikus kontrol negatif, Pada gambaran jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) hasil imunohistokimia terdapat sedikit warna coklat dan memiliki rata – rata ekspresi TNF- α sebesar $0,48 \pm 0,010$. Keadaan normal sitokin pasti terdapat didalam tubuh meskipun hal tersebut hanya terdapat dalam jumlah sedikit sebagai sistem homeostasis tubuh. Sitokin TNF- α yang diproduksi secara tidak tepat dapat menyebabkan destruksi atau penyakit, sitokin yang diproduksi merupakan dasar untuk perkembangan perlindungan imun (Popa *et al.*, 2007).

Pada tikus kontrol positif, gambaran jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) hasil uji imunohistokimia didapatkan ekspresi TNF- α yang terlihat banyaknya warna coklat yang memiliki rata- rata sebesar $0,75 \pm 0,027$. Presentase peningkatan ekspresi TNF- α pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang hanya diinduksi indometasin adalah 56,25 %. Peningkatan TNF- α disebabkan oleh indometasin. Indometasin yang bersifat lipofilik nantinya akan berikatan dengan membran sel yang tersusun dari fosfolipid sehingga terjadi pembentukan ROS, pembentukan ROS yang meningkat akan mengaktivasi NF-kB (*Nuclear Factor* kB) dan fosforilasi I κ B (*Inhibitor* NF-kB). Aktivasi NF-kB yang meningkat akan direspon oleh makrofag untuk memproduksi dan mensekresi sitokin proinflamasi TNF- α sebagai indikator terjadinya inflamasi, dan TNF- α akan mengaktivasi dari neutrofil kedaerah yang mengalami inflammasi (Takeuchi *et al.*, 2013).

Hasil Immunohistokimia pada jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 600 mg/kg BB terdapat adanya warna coklat yang menunjukkan adanya ekspresi TNF- α dengan rata – rata sebesar $0,67 \pm 0,008$. Presentase penurunan ekspresi TNF- α pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 600 mg/kg BB terhadap kontrol positif yaitu 10,6 %.

Hasil Immunohistokimia pada jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 700 mg/kg BB terdapat adanya warna coklat yang menunjukkan adanya ekspresi TNF- α dengan rata – rata sebesar $0,64 \pm 0,015$. Presentase penurunan ekspresi TNF- α pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 700 mg/kg BB terhadap kontrol positif yaitu 14,6 %.

Hasil Immunohistokimia pada jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 800 mg/kg BB terdapat adanya warna coklat yang menunjukkan adanya ekspresi TNF- α dengan rata – rata sebesar $0,49 \pm 0,010$. Presentase penurunan ekspresi TNF- α pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi terapi ekstrak daun ubi jalar ungu 800 mg/kg BB terhadap kontrol positif yaitu 34,6 %.

Ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) yang memiliki kandungan flavanoid berfungsi sebagai antioksidan untuk penyakit *Inflammatory Bowel Disease*. Menurut Sumardika dan Jawi, (2012) Flavanoid memiliki

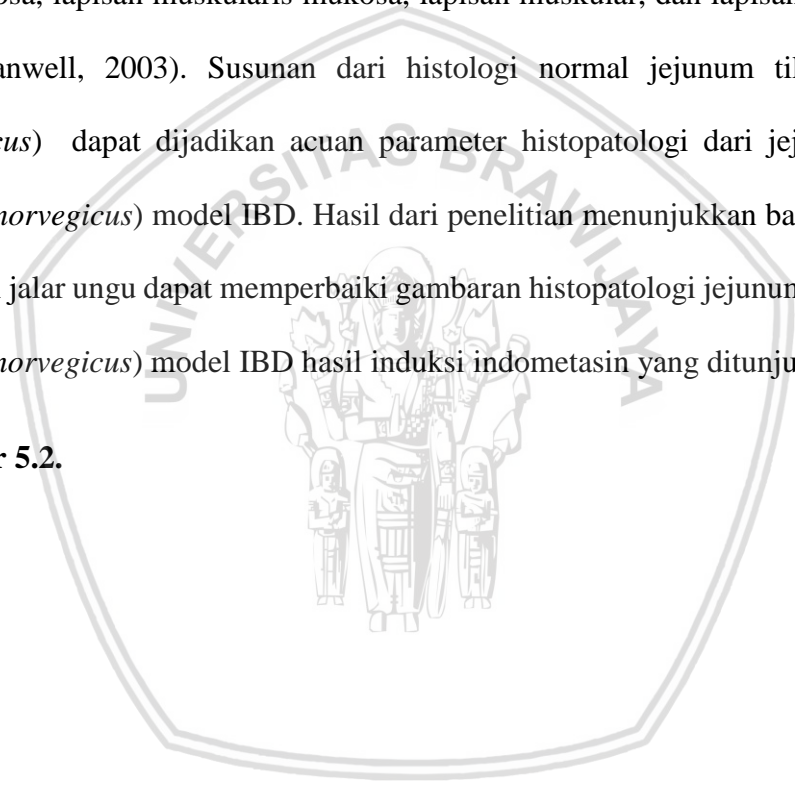
mekanisme sebagai antioksidan dapat bersifat secara langsung ataupun tidak langsung. Radikal bebas seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk didalam tubuh akan dinetralsir efek toksiknya oleh flavanoid sebagai reaksi antioksidan secara langsung yang memiliki mekanisme mendonorkan ion hidrogen sehingga ion-ion radikal bebas akan menjadi stabil. Keadaan ion yang stabil menyebabkan menurunnya keadaan stress oksidatif didalam jaringan, sedangkan mekanisme flavanoid secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan antioksidan endogen seperti superoxide dismutase (SOD).

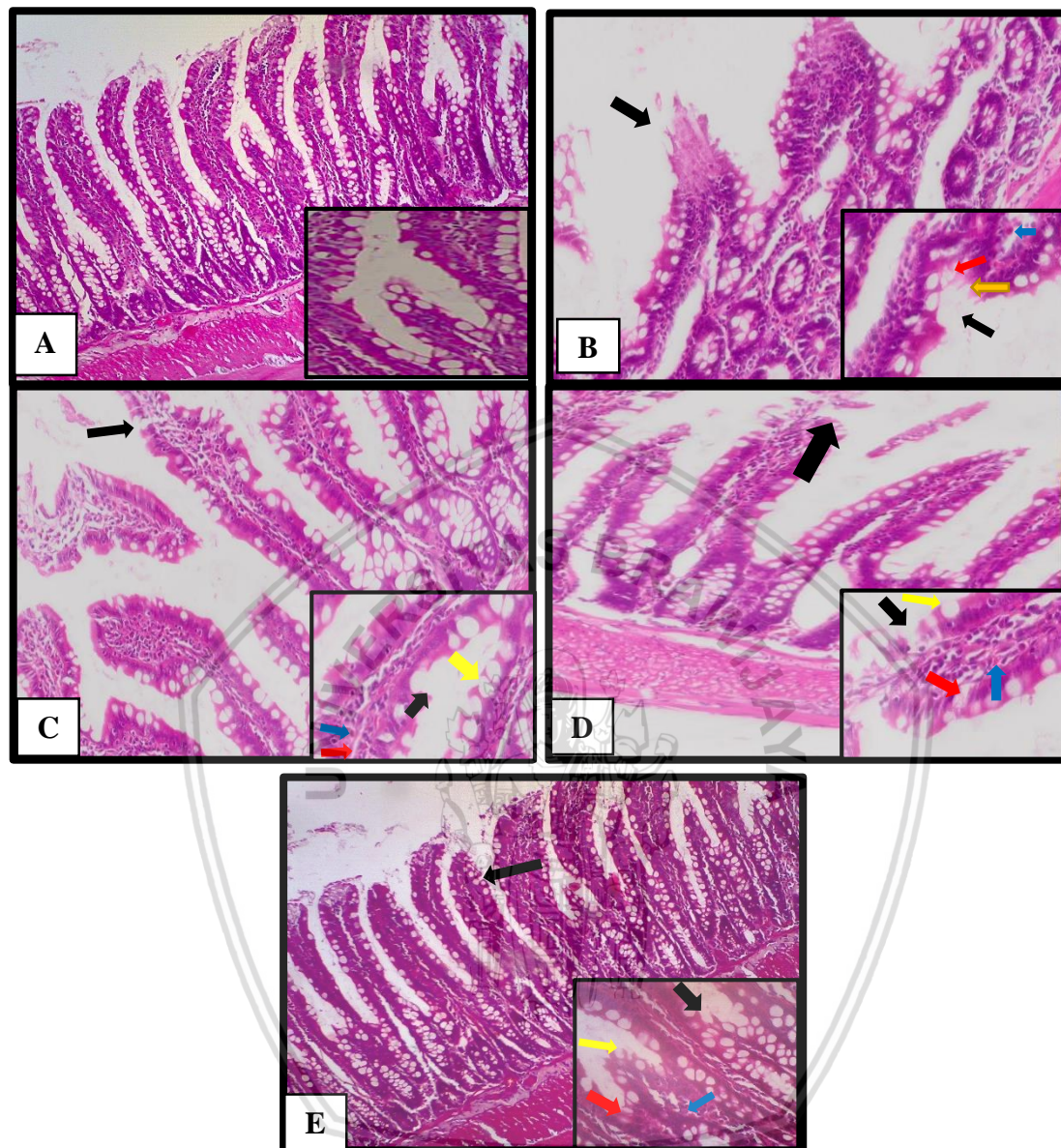
Penurunan radikal bebas oleh flavanoid dapat juga menurunkan dari terbentuknya NF-kB, salah satunya untuk pembentukan TNF- α , NF-kB akan tetap berikatan dengan inhibitor NF-kB (Abbas *et al.*, 2004), akibatnya NF-kB tidak mampu berikatan dengan respon elemen yang seharusnya dapat memicu transkripsi dan translasi dari sitokin proinflamatori (TNF- α). Sitokin proinflamatori yang tidak terbentuk akan mengakibatkan penurunan aktivitas dari sel inflamasi (Yilmaz *et al.*, 2011).

5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) Terhadap Gambaran Histopatologi Jejunum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Hasil Induksi Indometasin

Histopatologi dari jaringan jejunum merupakan salah satu parameter acuan untuk mengukur keberhasilan dari suatu terapi terhadap suatu penyakit. Pada susunan histologi jejunum terdiri dari vili, sel-sel epitel dengan sel goblet, lapisan submukosa, lapisan muskularis mukosa, lapisan muskular, dan lapisan serosa (Xu and Cranwell, 2003). Susunan dari histologi normal jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) dapat dijadikan acuan parameter histopatologi dari jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun ubi jalar ungu dapat memperbaiki gambaran histopatologi jejunum tikus putih (*Rattus norvegicus*) model IBD hasil induksi indometasin yang ditunjukkan pada

Gambar 5.2.





Gambar 5.2 Histopatologi Jejunum Tikus dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) Perbesaran 100 X dan 400 X

Keterangan : (A) Kontrol Negatif; (B) Kontrol Positif; (C) Jejunum tikus terapi 600 mg/kg BB; (D) Jejunum tikus terapi 700 mg/kg BB; (E) Jejunum tikus terapi 800 mg/kg BB. (↓) Erosi sel epitel, (↕) Diskontinuitas vili, (↗) Infiltrasi sel radang, (↘) Sel Goblet Yang Rusak

Gambaran histopatologi jejunum dengan pewarnaan HE pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) kelompok 1 (kontrol negatif) (**Gambar 5.2 A**) menunjukkan gambaran vili yang baik dan rapat, lapisan epitelial terdapat sel epitel kolumner simplek, dan sel goblet yang berada diantara sel epitel dengan posisi yang baik. Hal ini menunjukkan kontinuitas sel mukosa jejunum sehat berbeda dengan kelompok 2 (kontrol positif) (**Gambar 5.2 B**), yaitu jejunum tikus putih (*Rattus norvegicus*) model IBD, terjadi kerusakan, yaitu vili patah, tidak terlihat rapi serta terlihat infiltrasi sel radang pada jejunum. Kerusakan epitel jejunum pada kelompok 2 (kontrol positif) menunjukkan erosi epitel, yaitu sebagian sel epitel hilang karena rusak sehingga lapisan epitel dan sel goblet tidak lagi tertata lengkap rapat dan tertata rapi, yang disebut dengan diskontinuitas epitel dan terdapat infiltrasi sel radang. Hal ini sesuai dengan penelitian Kara (2012), bahwa induksi indometasin dengan dosis 15 mg/kg BB selama 24 jam menyebabkan IBD yang ditandai dengan kongesti pembuluh darah, erosi sel epitel, dan infiltrasi sel radang.

Indometasin memiliki mekanisme yang dapat menyebabkan kerusakan jejunum dengan cara merusak membran sel dari epitel jejunum, Indometasin memiliki sifat lipofilik sehingga nantinya akan berikatan dengan membran sel yang tersusun atas fosfolipid, akibatnya pembentukan enzim fosfolipase akan terhambat dan mengakibatkan kegagalan pembentukan asam arakidonat yang nantinya akan dipecah melalui dua siklus, yaitu lipooksigenase dan siklooksigenase untuk menghasilkan prostaglandin. Prostaglandin yang terhambat mengakibatkan penurunan sekresi mukus pada jejunum tikus, akibatnya mikroflora akan lebih mudah menginvasi dari mukosa jejunum dan mengakibatkan kerusakan dari bagian

mukosa jejunum. Mukosa jejunum tersusun atas villi yang terdapat epitel kolumner simpleks, sel goblet, dan lamina propria, akibat penurunan sel epitel dan sel goblet maka akan mengakibatkan keadaan diskontinuitas mukosa jejunum (Watanbe *et al.*, 2001). Respon inflamasi disebabkan oleh keadaan stress oksidatif pada jaringan yang menyebabkan aktivasi dari sitokin proinflammasi oleh makrofag (Solanki *et al.*, 2010).

Pada kelompok 3 (terapi 600 mg/kg BB) gambaran histopatologi jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD (**Gambar 5.1 C**) terlihat mulai adanya perbaikan sel epitel jejunum yang ditandai dengan terjadinya kontinuitas sel, namun masih banyak terdapat kerusakan atau diskontinuitas pada beberapa bagian sel epitel jejunum, dan infiltrasi sel radang. Kerusakan pada mukosa jejunum sudah berkurang dibandingkan dengan tikus putih (*Rattus norvegicus*) kelompok 2 (kontrol positif).

Pada kelompok 4 (terapi 700 mg/kg BB) gambaran histopatologi jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD (**Gambar 5.1 D**) lebih baik dibandingkan dengan kelompok 2 (kontrol positif), dan kelompok 3 (terapi 600 mg/kg BB). Proses perbaikan sel epitel jejunum juga semakin membaik yang ditandai dengan terjadinya kontinuitas sel, penurunan kerusakan atau diskontinuitas pada beberapa bagian sel epitel jejunum, dan masih terdapatnya infiltrasi sel radang.

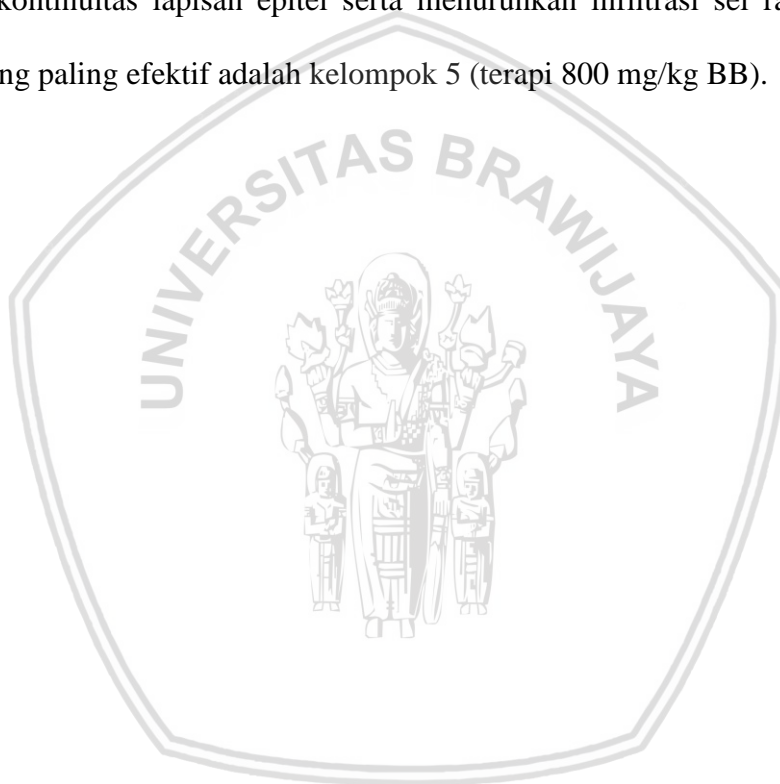
Pada kelompok 5 (terapi 800 mg/kg BB) gambaran histopatologi jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD (**Gambar 5.1 E**) menunjukkan perbaikan sel epitel yang lebih baik, bentuk vili lebih baik dan cenderung lebih rapat dibanding

dengan kelompok terapi 600 mg/kg BB dan 700 mg/kg BB, serta mengalami penurunan infiltrasi dari sel radang. Proses regenerasi mukosa jejunum diperankan oleh sel-sel *imature* pada epitel disekitar jaringan yang rusak. Sel *imature* ditemukan di dasar kriptus usus. Sel-sel ini identik dengan sel epitel intestinal primitif yang ditemukan pada saat embrio. Sel ini memiliki inti sel yang besar dengan anak inti menonjol, sedikit organel, dan tidak memiliki granula mukus. Sel tersebut akan bermigrasi menuju jaringan yang rusak dan akan berdiferensiasi secara bertahap menjadi sel absorbtif muda yang berbentuk kolumnar tanpa mengandung granula mukus, yaitu berupa sel epitel kolumnar simplek dan sebagian lain berdiferensiasi menjadi sel goblet yang mengandung granula mukus (Ogata, 2000).

Ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) yang memiliki kandungan flavanoid berfungsi sebagai antiinflamasi. Mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu menghambat aktivitas enzim COX dan lipooksigenase secara langsung yang menyebabkan penghambatan biosintesis prostaglandin dan leukotrien yang merupakan produk akhir dari jalur COX dan lipooksigenase. Hal ini dapat menghambat akumulasi leukosit dan degranulasi netrofil sehingga secara langsung mengurangi pelepasan asam arakidonat oleh netrofil, serta menghambat pelepasan histamin. Pada kondisi normal leukosit bergerak bebas sepanjang dinding endotel. Selama inflamasi, berbagai mediator turunan endotel dan faktor komplemen menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endotel. Pemberian flavonoid dapat menurunkan jumlah leukosit dan mengurangi aktivasi komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit

ke endotel dan mengakibatkan penurunan respon inflamasi tubuh (Nijveldt et al., 2001).

Berdasarkan penelitian didapatkan hasil bahwa terapi Ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model IBD dapat memperbaiki gambaran histopatologi jejunum dengan mengembalikan kondisi kontinuitas lapisan epitel serta menurunkan infiltrasi sel radang. Dosis terapi yang paling efektif adalah kelompok 5 (terapi 800 mg/kg BB).



BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dapat menurunkan ekspresi *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α) pada jaringan jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD, dengan dosis terbaik adalah dosis 800 mg/kg BB, yang ditunjukkan dengan rata-rata ekspresi TNF- α (%) memiliki notasi yang sama dengan kontrol negatif.
2. Pemberian terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) dapat memperbaiki gambaran Histopatologi jejunum tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD, dengan dosis terbaik adalah dosis 800 mg/kg BB, yang ditunjukkan vili memiliki bentuk yang baik dan rapat, kontinuitas vili yang baik dan menurunnya kerusakan sel goblet.

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis yang lebih optimal dari ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) model IBD hasil induksi indometasin.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., and A.H. Lichtman. 2004. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System, 2nd Edition*. Saunders. Philadelphia. 27, 34-37, 44, 108, 114-116.
- Antia, B.S., E.J. Akpan, P.A. Okon, and I.U. Umoren. 2006. Nutritive and Anti-Nutritive Evaluation of Sweet Potatoes (*Ipomoea batatas*) leaves, *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(2), 166-168
- Armitage, D. 2004. *Rattus norvegicus*. Animal Diversity Web. University of Michigan of Zoology.
- Aulanni'am., A. Roosdiana, and N.L. Rahmah. 2012. The Potency of *Sargassum Duplicatum* Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in *Rattus norvegicus*. *Journal of Life Sciences* 6 : 144-154.
- Awang, Y.P, Aulanni'am, and C.P. Masdiana. 2015. Histopathology and The Amount Of Microflora In White Rat Jejunum (*Rattus norvegicus*) Exposed To Indomethacin and Lactid Acid Bacteria (LAB). *Journal of Life Sciences*.
- Baratawidjaja, K.G dan I. Rengganis. 2009. *Imunologi Dasar*. Balai Penerbit FKUI.Jakarta.
- Besselsen, DG. 2004. *Biology of laboratory rodent*.<http://www.ahsc.arizona.edu/>. [Diakses 2 Januari 2018]
- Bures, J., J. Pejchal, J. Kvetina, A. Tichy, S. Rejchrt, M. Kunes and M. Kopacova. 2011. *Morphometric Analysis of the Porcine Gastrointestinal Tract in a 10-Day High-dose Indometachin Administration with or Without Probiotic Bacteria Eschericia coli Nissle 1917*. *J.Human and Experimental Toxicology* 30(12): 1955-1962.
- Corwin, E. J. 2008. *Handbook of pathophysiology 3th edition*. Philadelphia. Lippincort Williams & Wilkins.

- Dorland, W.A.N. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland* (Setiawan, A., Banni, A.P., Widjaja, A.C., Adji, A.S., Soegiarto, B., Kurinawan, D., dkk, penerjemah). Jakarta : EGC.
- Feakins R. M. 2013. Inflammatory bowel disease biopsies: updated British Society of Gastroenterology reporting guidelines. *J Clin Pathol* 1136-201885.
- Friedman S, and RS Blumberg. 2010. *Inflammatory Bowel Disease – Dalam, Longo DL., Fauci AS, penyunting. Harrison's Gastroenterology and Hepatology. 17th Edition. United States : The Mc Graw – Hill companies ; 2010 ; 16 : 174- 95.*
- Geboes, K. 2003. Histopathology of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Journal of Pathology*. (18): 255-276
- Ghasemzadeh, A., V. Omidvar, and H.Z.7.E. Jaafar. 2012. Polyphenolic Content and Their Antioxidant Activity Inleaf Extract of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(15), 2971-2976.
- Giugliano, D., A. Ceriello and K. Esposito. 2006. The Effect of Diet on Inflammation. *Journal of the American College of Cardiology* 48 (4) : 677-685.
- Green, E. A and R.A. Flavell. 2000. The temporal importance of TNF- α expression in the development of arthritis reumatoid. *Journal Immunity*, 12: 459-469.
- Hall E.J.M. 2012. *Inflammatory Bowel Disease In Dogs and Cats*. School of Veterinary Sciences, University of Bristol ; Langford House. England.
- Huaman Z. 1992. Systematic botany and morphology of the sweet potato plant. Lima, Peru: *International Potato Center* (CIP), pp. 5-11.
- Kara M. 2012. *Feline IBD: Pathophysiology, Treatment Goals and Client Communication*. Academy of Veterinary Nutrition Technician.
- Kaser, A., S. Zeissig and R.S. Blumberg. 2010. *Inflammatory Bowel Disease*. *Annu Rev Immunol*. 28:573-621.

- Lanas A, and C Scarpignato. 2006. Microbial Flora in NSAID-Induced Intestinal Damage: A Role for Antibiotics. *New York Science Journal*, 73:136-150
- Penelitian dan Pengembangan. 2008. *Koleksi Tanaman Obat Balai Besar Litbang*.//<http://www.litbang.com> [1 Januari 2017].
- Martins, N.B and M.A Peppercorn. 2004. Inflammatory Bowel Disease. *Am J Manag Care*. 10:544-52.
- Mescher A. L. 2013. *Junqueira's Basic Histology thirteenth edition*. McGraw-Hill Education. New York. p-311
- Murch, S.H., C.P. Braegger, J.A. Walker-Smith and T.T. Mac Donald. 2013. *Location of tumour necrosis factor a by immunohistochemistry in chronic Inflammatory bowel disease*. *Gut* 2013;34:1705-1709.
- Morrow, J.D and L.J. Roberts. 2001. *Analgesic-antipyretic and antiinflammatory Agents and drugs employed in the treatment gout*. In: Hardman JG, Limbird LE, editors. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th edn*, New York, McGraw-Hill, pp. 687-731.
- Mwanri AW and L. Henry . 2011. Nutrients and Antinutrients Composition of Raw, Cooked and Sun- Dried Sweet Potato Leaves. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition, and Developement*. Vol 11 No.5.
- Navarro-Gonzales J.F and C. Mora-Fernandez. 2008. The Role of Inflammatory Cytokines in Disabetic Nephropathy. *Journal of American Society Nephrology*. 19: 433-442.
- Neuman, M. G. 2004. Signaling for Inflammation and Repair in Inflammatory Bowel Disease. *Romanian Journal of Gastroenterology*. 13(4):309-316.
- Neuman, M.G. and R.M. Nanau. 2011. Inflammatory bowel disease: role of diet, Microbiota, life style. *Translational Research*. 160(1):29-44

- Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC, Boelens PG, van Norren K, and van Leeuwen PAM. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of Action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 74: 418.
- Ogata T. 2000. Duodenal And Gastric Cell Regenerating Epithelia On Margins Of Human Duodenal Ulcer And Presence Of *H. Pylori* – An Electron Microscopic Study. *Journal Histology Histopathology* ;12: 57-68.
- Popa, C, M.G. Netea, P.L.M van Riel, M.J.W van der Meer and A.F Stalenhoef. 2007. The role of TNF- α in chronic inflammatory conditions, intermediary Metabolism, and cardiovascular risk. *Journal of Lipid Research*. 48: 751-762.
- Riansyah Y., M. Lanny, dan C. Ratu. 2015. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* (L.) Lamk.). Terhadap Tikus Wistar Jantan. *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*. 2015;3(2):630-636.
- Ruter, J. 2017. *Sweet potato Ipomoea batatas [L.] Lam.* <https://www.invasive.org/browse/detail.cfm?imgnum=1605688>. [Diakses 20 April 2018)
- Solanki, R., D. Madat, K. Chauhan and L. Parmar. 2010. Recent Approaches in Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *International Journal of Pharm Tech Research* 2(3):1796-1809
- Sulastri, Erlidawati, Syahrial, M. Nazar dan T. Andayani. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Hasil Budidaya Daerah Saree Aceh Besar. *Jurnal Rekayasa dan Lingkungan*. Vol. 9, No. 3. Banda Aceh.
- Sumardika, I.W. dan I.M. 2012. Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid Dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus Yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Medicana*. 43 : 67 - 71.
- Sirosis, M. 2005. *Laboratory Animal Medicine : Principles and Procedures*. United States of America: Mosby, Inc.

- Takeuchi, K., A. Tanaka, R. Ohno and A. Yokota. 2003. Role of COX Inhibition In patogenesis of NSAID-linduced Small Intestinal Damage. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 54 (Suppl 4): 165-182.
- Watanabe T, Higuchi K, Tominaga K, Fujiwara Y, and Arakawa T. 2001. Acid Regulates Inflammatory Response In A Rat Model Of Induction Of Gastric Ulcer Recurrence By Interleukin 1 B . *Journal Gut* 48:774-81
- Xu, C. P. D. 2003. Gastrointestinal and Nutrition The Neonatal Pig. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 50:629-635
- Yilmaz, H., Giizel, Y., Onal, Z., Altiparmak, G., and Kocakaya, S.O. 2011. 4D-QSAR Study of p56 Protein Tyrosine Kinase Inhibitory Activity of Flavanoid Derivates Using MCET Method. *Korean Chemical Journal* 32 (12) : 4352-4360.
- Zhang, H. Y. 2005. *Structure Activity Relationships and Rational Design Sreategies for Radical Scavenging Antioxidants*. Computer Aided Drug Design. 1 : 257-273.